

Lokale Schutzimpfung von Pferden gegen Tetanus:

Wirksamkeit und Unschädlichkeit einer oralen,
nasalen und über Wunden durchgeführten aktiven
Immunisierung im Vergleich zur parenteralen
Schutzimpfung.

Peter Cronau

1978



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions-
und Seuchenmedizin des Fachbereichs Tiermedizin
der Universität München

Vorstand: Prof. Dr. Dr.h.c. Anton Mayr

Lokale Schutzimpfung von Pferden gegen Tetanus:

Wirksamkeit und Unschädlichkeit einer oralen, nasalen und
über Wunden durchgeführten aktiven Immunisierung im Vergleich
zur parenteralen Schutzimpfung.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde des Fach-
bereichs Tiermedizin der Ludwig-Maximilians-
Universität München

von

Peter Cronau

aus

Kirchen

MÜNCHEN 1978

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Tiermedizin
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Kräußlich
Referent: Prof. Dr. Dr. h.c. Anton Mayr
Korreferent: Prof. Dr. H. Kraft

Tag der Promotion: 24. Februar 1978



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	1
2. SCHRIFTTUM: BISHERIGE MÖGLICHKEITEN EINER TETANUS-MEDIKATION BEIM PFERD	2
2.1. <u>Therapie</u>	2
2.1.1. Kausale Therapie	2
2.1.1.1. Passive Immuntherapie	2
2.1.1.2. Aktive Immuntherapie	5
2.1.1.3. Chirurgische Therapie	5
2.1.2. Symptomatische Therapie	7
2.1.3. Antibiotische Therapie	10
2.1.4. Substitutionstherapie	10
2.1.5. Allgemeine Maßnahmen	10
2.2. <u>Prophylaxe</u>	12
2.2.1. Allgemeine Maßnahmen	12
2.2.2. Passive Immunisierung	12
2.2.3. Aktive Immunisierung	14
2.2.4. Simultanimpfung	17
2.3. <u>Impfreaktionen nach aktiver und passiver Immunisierung</u>	19

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	21
3.1. <u>Material und Methoden</u>	21
3.1.1. Versuchstiere	21
3.1.2. Impfstoff	21
3.1.3. Immunisierung	21
3.1.4. Applikationsmodus und Impfdosis	22
3.1.5. Blutentnahme	22
3.1.6. Gewinnung der Sera	23
3.1.7. Indirekte Hämagglutination	23
3.1.7.1. Immunserum	23
3.1.7.2. Behandlung der Sera	23
3.1.7.3. Antigen	24
3.1.7.4. Stabilisierung der HE	24
3.1.7.5. Sensibilisierung der HE	24
3.1.7.6. Durchführung des Testes	25
3.1.8. L_+ -Methode	25
3.2. <u>Ergebnisse</u>	26
4. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE	43
5. ZUSAMMENFASSUNG UND SUMMARY	47
6. LITERATURVERZEICHNIS	51

1. Einleitung

Clostridium tetani, ein in der Natur ubiquitär verbreiteter Keim und Intestinalbewohner, stellt eine ständige Bedrohung für Mensch und Tier dar. Das Pferd ist für Tetanus besonders empfänglich. Den besten Schutz vor einer Tetanuserkrankung bietet derzeit die aktive, parenterale Schutzimpfung mit Toxoidimpfstoffen.

Die Durchimmunisierung unserer Pferdepopulation ist leider nicht optimal. Es kommen noch immer relativ häufig Tetanus-erkrankungen bei Pferden vor. Die Gründe liegen in der Nachlässigkeit der Tierbesitzer und in der Angst vor Impf-erkrankungen. Postvakzinale Komplikationen treten vor allem in Form von Lokalreaktionen auf, die sich bei parenteraler Verabreichung des Impfstoffes wahrscheinlich nie ganz vermeiden lassen.

Eine lokale Immunisierung vermindert die Gefahr von Impfreaktionen. Zur Diskussion stehen 3 Applikationsformen: die orale und nasale Impfung sowie die Wundimmunisierung.

Aufgabe vorliegender Arbeit ist es, die Wirksamkeit und Unschädlichkeit dieser 3 lokalen Impfverfahren beim Pferd vergleichend mit der allgemein gebräuchlichen intramuskulären Impfung zu untersuchen.

2. Schrifttum: Möglichkeiten einer Tetanusmedikation beim Pferd

Ein Allheilmittel gegen Tetanus gibt es nicht. Bei richtiger Kombination verschiedener Bekämpfungsmaßnahmen ist Tetanus aber nicht mehr als unheilbar anzusehen.

Die verschiedenen Bekämpfungsmöglichkeiten werden nachfolgend besprochen. Einen schematischen Überblick vermittelt die Abbildung 1.

2.1. Therapie

2.1.1. Kausale Therapie

2.1.1.1. Passive Immuntherapie (passive Immunisierung)

Nach einer Infektion mit *Cl. tetani* setzt in einem günstigen Milieu (anaerobe Verhältnisse, zerstörtes Gewebe usw.) die Toxinbildung rasch ein. Das Toxin ist nach der Resorption sofort wirksam. Eine aktive Immunisierung mit Tetanus-Toxoid kann zu diesem Zeitpunkt nicht mehr das Krankheitsgeschehen beeinflussen, weil die postvakzinale Antitoxinbildung zu spät kommt (19,36). Deshalb wird versucht durch die passive Immunisierung, bei nicht oder nur ungenügend immunisierten Pferden, die Toxinwirkung zu verhindern. Die passiv verabreichten Antitoxine können nach Forenbacher und Mihaljevic nur das Toxin im Blutkreislauf, aber nicht das Toxin, das schon am Zentralnervensystem wirkt, binden. Der Wert einer passiven Immunisierung hängt demnach sehr stark vom Zeitpunkt der Antitoxingabe ab.

Bei Tetanuserkrankungen mit bereits ausgeprägten Symptomen ist selbst mit hohen Dosen von Antitoxinen keine wesentliche Besserung zu erwarten (Ehmke und Seidler, Schliesser). Sinnvoll ist die passive Impfung nach Schliesser daher nur in den ersten Stunden nach der Infektion, in denen aber klinisch Tetanus sehr schwer diagnostiziert werden kann. Ehmke und Seidler sowie Eckmann verglichen verschiedene therapeutische Maßnahmen und kamen zu dem Schluß, daß die passive Immunisierung bei der Behandlung der Tetanuserkrankung keinen Erfolg bringt. Dieselbe Meinung vertraten Wickers und Boswoop. Sie verabreichten einem an Tetanus erkrankten Pony innerhalb von 3 Tagen insgesamt 290 000 Internationale Einheiten (I.E.) Antitoxin. Trotzdem kam es bei dem Patienten am 4. Tag zu einer weiteren Verstärkung der Muskelkrämpfe.

Daneben gibt es aber auch Autoren, die die passive Immunisierung zur Behandlung des Tetanus ausdrücklich empfehlen und zwar nicht als alleiniges Therapeutikum sondern in Kombination mit anderen Maßnahmen (57,26,14). Nach Löhner und Radvila soll ein hoher Antitoxingehalt im Serum die weiteren Toxinausschüttungen in das Serum neutralisieren. Sie beobachteten in ihren Untersuchungen, daß nach passiver Impfung die Muskelstarre in der gleichen Intensität erhalten blieb und nicht mehr weiter fortschritt.

So unterschiedlich wie die Beurteilung der Wirksamkeit der Antitoxingabe ist, so unterschiedlich sind auch die Angaben über

die Antitoxindosis. Die Angaben schwanken zwischen 15 000 bis 300 000 I.E. (Forenbacher und Mihaljevic), mindestens dreimal 300 000 I.E. (Löhrer und Radvila) , 45 000 I.E. (59) oder 500 I.E. pro Kg Körpergewicht (Schliesser).

Ullrich empfiehlt die höchste Dosis und zwar am 1. Tag eine Injektion von 500 000 I.E. und dann die tägliche Gabe von 100 000 I.E. über mehrere Tage.

Das Antitoxin kann intravenös, intramuskulär oder subkutan appliziert werden. Durch die intravenöse Gabe wird eine schnellere Wirkung des Antitoxins erreicht. Bei Infektionen der Hinterhand soll eine epidurale Injektion Vorteile bringen. Die Antitoxingabe muß in jedem Fall an mehreren Tagen wiederholt werden. Bei bekannter Eintrittspforte wird auch empfohlen, lokal die Eintrittspforte mit Immunserum zu umspritzen (Tamponade) (59). Schützler und Dockhorn versuchten das Immunserum mittels Aerosol zu verabreichen. Selbst nach Verneblung extrem hoher Dosen konnte im Serum der Pferde keine Antitoxine festgestellt werden. Wahrscheinlich werden die Antitoxine beim Verneblungsprozeß zerstört.

In jedem Fall sollte homologes Hyperimmunserum angewendet werden. Mit homologen Antiseren kann 1. der schützende Antitoxingehalt im Serum über einen längeren Zeitraum (12 bis 14 Tage) aufrecht erhalten werden und 2. ohne Wirksamkeitsverlust mehrmalige Injektionen durchgeführt werden (Radvila und Löhrer).

Heterologes Immunserum wird vom Organismus ab dem 7. Tag vermehrt abgebaut. Verantwortlich dafür sind Antikörper, die vom Wirtsorganismus gegen das artfremde Protein gebildet werden (54). Die geringe Wirksamkeit einer erneuten Injektion ist ebenfalls auf diese Antikörper zurückzuführen (11,39,40).

Eine überstandene Tetanuserkrankung hinterläßt keine dauerhafte Immunität. Darum wird 6 Monate nach der Erkrankung eine aktive Immunisierung empfohlen (Löhrer und Radvila).

2.1.1.2. Aktive Immuntherapie

Die aktive Immuntherapie hat nur historische Bedeutung. Man versteht darunter die aktive Immunisierung bei bereits an Tetanus erkrankten Tieren. Mit ihr erhoffte man sich beim kranken Tier einen für den Heilungsprozeß günstigen Booster-effekt und damit eine überschießende Antitoxinbildung stimulieren zu können, nachdem der Erreger bzw. sein Toxin die primäre Immunreaktion bereits ausgelöst hatte. Diese Hoffnung erfüllte sich aber in der Praxis nicht. Es konnte mit dieser Therapie der Verlauf der Tetanuserkrankung nicht beeinflußt werden (Böttger).

2.1.1.3. Chirurgische Therapie

Vorbedingung für die chirurgische Behandlung ist das Auffinden

der Eintrittspforte des Erregers. Dies gestaltet sich meist sehr schwierig, denn es kann sich dabei um relativ kleine Verletzungen handeln, die sehr schwer zu finden sind. Oft vorkommende Anlässe, die die Gefahr der Infektion mit Tetanuserregern in sich bergen, sind Kastrations- und andere Operationswunden, Verletzungen der Mundschleimhaut, Vernagelungen, Nagel- und Kronentritt (Beer). Je früher die Eintrittspforte gefunden wird und lokal behandelt werden kann, umso günstiger ist die Prognose. Die chirurgischen Maßnahmen beschränken sich auf den Infektionsort. Sie bestehen aus einer großzügigen Eröffnung der Wunde mit mechanischer Reinigung. Die Wunde sollte in allen Schichten der traumatischen Einwirkung genau revidiert und von Schmutzteilen und traumatisierten Gewebeteilen gesäubert werden (Böttger). Bei Nageltritten und Vernagelungen muß zum Beispiel der Nagel entfernt und der Stichkanal sorgfältig nachgeschnitten werden. Dann wird die Wunde mit Wasserstoffsuperoxyd ausgewaschen, zur Beseitigung der anaeroben Verhältnisse. Daran schließt sich eine aseptische Behandlung der Wunde an. Am besten eignet sich hierfür ein Angußverband mit Acridinfarbstoffen z.B. Rivanol 1:1000, der für eine notwendige, anhaltende Asepsis an der Wundstelle sorgt. Dieser Verband sollte in sechsstündigem Turnus neu angegossen werden. Bei Verletzungen bei denen kein Verband angelegt werden kann, zum Beispiel an den proximalen Extremitätenabschnitten oder am Rumpf, ist nach Eröffnung, die Wunde ebenfalls mit H_2O_2 zu behandeln. Nachbehandelt wird aber dann mit im Handel befindlichen Wundsprays mit Breitspektrumantibiotika oder aber

auch mit gut haftenden Antibiotika-Wundsalben. Die Wundspülung mit Wasserstoffsuperoxyd bzw. die anschließende Wundabdeckung mit der Salbe oder dem Spray sollte zweimal täglich durchgeführt werden.

In jedem Fall muß die Wunde aber durch Drainage oder durch einen Tampon solange wie möglich offen gehalten werden, um zu vermeiden, daß sich wieder anaerobe Verhältnisse ausbilden (Ullrich, Schliesser, Beer).

2.1.2. Symptomatische Therapie

Tetanus ist eine durch tonische Krämpfe der gesamten Muskulatur oder einzelner Muskelgruppen und durch gesteigerte reflektorische Erregbarkeit gekennzeichnete Krankheit. Vor allem bei den Extensoren der Skelettmuskulatur kommt es zu krampfartigen Kontraktionen (sägebockartige Stellung). Im weiteren Verlauf verkrampft sich die für die Nahrungsaufnahme wichtige Kaumuskulatur (Trismus).

Die symptomatische Behandlung hat zum Ziel, die erhöhte Schreckhaftigkeit und psychische Überbelastung des Patienten und die abnorme Erhöhung des Stoffwechsels mit ihren Folgen zu dämpfen, sowie die Behinderung der Atmung durch die Verkrampfung der Atemmuskulatur, die zur Azidose führt, zu beseitigen und ferner die Schlundkrämpfe, die durch Behinderung des Abschluckens zur Aspiration von Speichel und Nahrung und damit zur Aspirationspneumonie führen können, zu lösen (Fritsch).

Dafür gibt es 2 Wege: die Muskelentspannung durch totale Paralyse bei Dauerbeatmung mit peripheren Muskelrelaxantien (z.B. Curare) oder die Muskelentspannung durch Interneuronenblocker mit erhaltener Spontanatmung. Von der ersten Möglichkeit wird kaum mehr Gebrauch gemacht, weil der technische Aufwand und der Aufwand an Personal zur Durchführung der künstlichen Beatmung zu groß ist (Fritsch).

Im Vordergrund der symptomatischen Behandlung steht heute der Einsatz von Muskelrelaxantien, die zur Gruppe der Interneuronenblocker gehören. Bewährt haben sich vor allem 2 chemische Verbindungen: Gujakol-Glycerinäther (My 301) und Phenothiacinderivate (Combelen).

Fritsch beschreibt die Behandlung von 10 Tetanus-Pferden mit My 301. Die Applikation erfolgte per Dauerkanüle über die V. jugularis. Durch das My 301 wird ein reversibler Interneuronenblock geschaffen, der die Relaxierung bewirkt. Je nach Schwere der Erkrankung wurden 10 bis 20 Gramm My 301 in 5%iger Lösung mit 5% Glukose gegeben. Zusätzlich verabreichte er pro Tag jedem Pferd 50 mg Megaphen, 0,5g Luminal bei starken Erregungszuständen, Penicillin und ein Herzmittel. Mit dieser Behandlung konnte Fritsch 6 der 10 Pferde heilen. Zur zusätzlichen Sedation, um den Patienten von der Umwelt abzusichern, dienen Tranquilizer wie Chlorpromazin (Lundvall) oder Acethylpromazin (Schütz).

Ehmke und Seidler sehen als Nachteil des My 301, daß es wenig Depotwirkung zeigt und deshalb im Dauertropf oder in relativ kurzen Abständen intravenös verabreicht werden muß. Sie bevorzugen das Combelen, ein Tranquilizer und Muskelrelaxans. Combelen wirkt auf das Stammhirn hemmend und senkt peripher die allgemeine Reflexerregbarkeit. Man erreicht mit Combelen sowohl eine objektive als auch eine subjektive Wirkung. Die objektive Wirkung besteht in einer Relaxierung der Skelettmuskulatur und der für die Nahrungsaufnahme wichtigen Kau- und Kehlkopfmuskulatur. Es kommt zu einem Nachlassen des Muskeltonus und zu einer Herabsetzung der gesteigerten Reizbarkeit. Die subjektive Wirkung besteht in einer Abschirmung des erkrankten Tieres vor Umwelteinflüssen durch die sedative und hypnotische Wirkung des Combelen, bei ungestörtem Bewußtsein. Eine exakte Dosierung kann nach Forenbacher und Mihaljevic nicht angegeben werden, denn sie ist stark von der individuellen Empfänglichkeit abhängig. Sie empfehlen bei leichten Fällen über 10 Tage im Durchschnitt eine tägliche Dosis von 1,25 bis 2,5 ml Combelen pro 100 kg Körpergewicht und bei schweren Fällen über 17 Tage bis zu 5 ml pro 100 kg Körpergewicht. Die Injektion erfolgt intramuskulär. Am besten bewährt hat sich die Verteilung der Tagesdosis auf 2 Injektionen (vormittags und nachmittags). Die Wirkung des Combelen reicht von 45 bis 60 Minuten bis zu 7 bis 8 Stunden nach der Injektion. Nebenwirkungen wurden selbst in den höchsten Dosisbereichen nicht beobachtet.

In jedem Fall günstig auf die Heilung soll sich die zusätzliche

Gabe von Immunserum (15-bis 30-Tausend I.E.), Penicillin und (lokal Procain auswirken (Forenbacher und Mihaljevic). Eine Kombination von My 301 und Combelen sowie Penicillin und Serum werden ebenfalls als sehr günstig für den Krankheitsverlauf beschrieben (Böttger, Fritsch).

2.1.3. Antibiotische Therapie

Eine antibiotische Versorgung tetanuskranker Pferde wird allgemein empfohlen. Die Antibiotika wie z.B. Penicillin, Streptomycin, Tetrazykline usw. wirken sowohl gegen die vegetative Form des Tetanusbazillus als auch gegen eventuelle Eitererreger, die die Entwicklung anaerober Verhältnisse in der Wunde durch Sauerstoffverzehr fördern können (Beer, Ehmke und Seidler).

2.1.4. Substitutionstherapie

Bedingt durch den Trimus können die Tiere nur sehr schwer oder im fortgeschrittenen Stadium überhaupt keine Nahrung mehr aufnehmen. Im ersten Fall empfiehlt sich die Verabreichung flüssiger Nahrung wie Mehltrank oder Milch. Im zweiten Fall muß die künstliche Ernährung zum Beispiel mit Zuckerlösung per Nasenschlundsonde oder als Klysma eingeleitet werden (Ullrich).

2.1.5. Allgemeine Maßnahmen

Die richtige Aufstallung der kranken Pferde ist für einen

günstigen Krankheitsverlauf sehr wichtig. Es hat sich bewährt, wegen der erhöhten Reizbarkeit, die Patienten allein in einem Dunkelstall unterzubringen, um sie vor optischen und akustischen Reizen abzuschirmen.

Bei fortgeschrittener Erkrankung legen sich die Pferde nieder. Wegen der Gefahr von Sekundärerkrankungen wie Pneumonien, Pleuritiden oder statischen Lungenödemen empfiehlt es sich, die Pferde in einen Hängegurt zu verbringen. Bei bereits festliegenden Pferden muß in jedem Fall versucht werden, das Tier mit Hilfe eines Hängegurtes zum Stehen zu bringen (Ullrich, Beer).

2.2. Prophylaxe

2.2.1. Allgemeine Maßnahmen

Die allgemeine unspezifische Vorbeuge gegen Tetanus besteht in einer antiseptischen Wundbehandlung, in größter Sauberkeit bei der Geburtshilfe und Nabelpflege sowie in sorgfältigem Befolgen der Grundsätze der Asepsis beim Kupieren und Kastrieren und allen anderen operativen Eingriffen (Beer).

2.2.2. Passive Immunisierung

Die passive prophylaktische Immunisierung ist nach Operationen und Wundbehandlungen bei Pferden angezeigt, die nicht oder nur unzureichend aktiv immunisiert sind.

Ausschlaggebend für die Wirksamkeit der passiven Immunisierung ist die sogenannte Serumimmunität die als Überbegriff für die im Blut frei zirkulierenden Antitoxine steht. Die Stärke der antitoxischen Serumimmunität wird in Internationalen Einheiten (I.E.) ausgedrückt. 1 I.E. ist die Antitoxinmenge, die 1 Lf¹⁾ Toxin neutralisiert. Zur Beurteilung der Qualität einer Serumimmunität legt man eine sogenannte Schuttschwelle zugrunde. Darunter versteht man den Antitoxintiter, der fähig ist die Entstehung einer Erkrankung durch das Toxin zu verhindern (41). Dieser Wert

¹⁾ L.f. = Limes flocculationis = Flockungseinheit. Sie entspricht der Toxinmenge, die von 1 I.E. Tetanus-Antitoxin neutralisiert wird.

liegt beim Pferd nach Radvila und Löhrrer zwischen 0,1 und 0,05 I.E. pro ml Serum.

Sehr unterschiedlich sind die Angaben über die Antitoxindosis für die passive, prophylaktische Immunisierung des Pferdes. Sie schwanken zwischen 5 000 I.E. (12), 7 500 bis 10 000 I.E. (38), 10 000 bis 25 000 I.E. (46), 7 500 bis 15 000 I.E. (59) oder 20 000 bis 25 000 I.E. (43). Nach Fessler muß man zum Überschreiten der Schutzwelle im Serum mindestens 5 000 I.E. Antitoxin verabfolgen. Lange Zeit wurde zur passiven Tetanusprophylaxe nur die Verabreichung von 1 500 I.E. Antitoxin gefordert. Diese Dosis war, wie sich herausgestellt hat, zu niedrig gewählt. So beschreibt Sherman einen Tetanusfall bei einer Person, die zuvor mit 1 500 I.E. Antitoxin passiv immunisiert worden war. Die Dosierung sollte sich auch nach der jeweiligen Situation richten. Pferde mit risikoreichen Wunden müssen eine höhere Dosis verabreicht bekommen, als Pferde mit einer "normalen" offenen Wunde. Die Applikation des Immunserums erfolgt intramuskulär oder subkutan.

Die Dauer des passiven Schutzes hängt von der Antitoxindosis ab. Sie beträgt, bei einer angenommenen Schutzwelle von 0,1 bis 0,05 I.E., nach einer einmaligen Dosis von 7 500 bis 10 000 I.E. eines homologen Immunserums 3 Wochen (Radvila und Löhrrer). Nach subkutaner Injektion von 5 000 I.E. dauert der passive Schutz nur etwa 12 Tage (Fessler).

Schliesser meint dagegen, daß selbst die hohe Dosis von 10 000 bis 25 000 I.E. nur 7 bis 10 Tage schützt.

Für Fohlen wird kurz nach der Geburt die passive Immunisierung (1 500 I.E.) empfohlen, um dem Tetanus neonatorum vorzubeugen. Sehr viel besser als die Immunserumgabe ist aber die Aufnahme von Antitoxinen über das Kolostrum. Mit antitoxinhaltigem Kolostrum erreicht man interessanterweise sehr viel höhere Serumtiter beim Fohlen als mit dem besten Immunserum (Lemétayer et al.). Deshalb wird heute auch mehr die aktive Muttertierimpfung im 10. und 11. Trächtigkeitsmonat empfohlen, als das Fohlen passiv zu immunisieren. Die vom Muttertier übertragene Immunität gegen Tetanus reicht in der Regel für einen Schutz der ersten 3 Lebensmonate aus (Rossdale und Scarnell).

2.2.3. Aktive Immunisierung

In Gebieten, in denen Tetanus häufig auftritt bietet beim Pferd die aktive Immunisierung mit Abstand den sichersten Schutz (Chodnik et al., Hoyt, Mason und Schaafsma). Zur Impfung wird Tetanus-Toxoid (durch Formalin inaktiviertes Tetanus-Toxin) verwendet. In den heute handelsüblichen Impfstoffen ist das Toxoid zur Wirksamkeitssteigerung an Aluminiumhydroxid adsorbiert. Adsorbatvakzinen sind bis zu 68-mal wirksamer als reine Toxoidimpfstoffe (Radvila u. Löhner). Der Impfstoff kann entweder subkutan oder intra-

muskulär verabreicht werden, wobei zur Vermeidung von Lokalreaktionen, die hauptsächlich auf das Aluminiumhydroxid zurückzuführen sind, die intramuskuläre Applikation empfohlen wird.

Eine einmalige Toxoidinjektion, gleich welche Applikationsform oder welches Toxoid angewandt wird, reicht nicht zur Stimulierung einer belastbaren Immunität aus (12,41). Es wird eine Grundimmunisierung mit mindestens 2 Impfungen gefordert (7, 21, 35, 48). Nach der ersten Impfung kann nur eine schwache Immunreaktion nachgewiesen werden (21,27). Der Antitoxintiter steigt langsam an, erreicht gegen Ende des 2 Monats seinen höchsten Wert und fällt danach wieder ab (41). Nach der zweiten Impfung kommt es bereits am 3. bis 4. Tag zu einem starken Anstieg des Antitoxintiters, der nicht nur viel höher liegt als nach der ersten Impfung, sondern auch wesentlich länger persistiert (41). Eine belastbare Immunität soll 2 Wochen nach der 2. Impfung erreicht sein (18).

Den Intervallen zwischen den Injektionen kommt ebenfalls eine große Bedeutung für die Entwicklung der Basisimmunität zu. Es wurde nachgewiesen, daß von einem gewissen Zeitminimum an, die Immunitätssteigerung umso größer ist, je größer die Zeitspanne zwischen den Injektionen (52,55). Eine zu kurz auf die Erstimpfung durchgeführte Revakzination ist wirkungslos (41). Die Mindestzeit zwischen den Impfungen wird für

das adsorbierte Toxoid mit 1 bis 2 Monaten angegeben (45).

Für eine langdauernde Immunität ist eine 3. Impfung 6 bis 12 Monate nach den ersten 2 Impfungen notwendig (Mason et al.). Nach der dreimaligen Grundimpfung reicht für die Aufrechterhaltung dieser Basisimmunität eine jährliche Boosterimpfung aus.

Bei der Bewertung der aktiven Immunität muß man beachten, daß der fehlende Nachweis eines schützenden Antitoxintiters im Serum nicht gleichbedeutend ist mit dem Verlust der Immunität. Ausschlaggebend ist die potentielle Immunität, unter der man das Reaktionsvermögen eines aktiv immunisierten Organismus, auf die geringste Zufuhr von Toxin bzw. Toxoid zu antworten, versteht. Die Reaktivität ist geringer ausgeprägt, je weiter die Grundimmunisierung zurückliegt (22).

Neben der jährlichen Auffrischungsimpfung werden für trächtige Tiere zum passiven Schutz des Fohlens 2 Boosterimpfungen im 10. und 11. Trächtigkeitsmonat empfohlen. Die erste aktive Impfung des Fohlen sollte nicht vor dem 3. Lebensmonat vorgenommen werden.

2.2.4. Simultanimpfung

Als Notimpfung bei Verletzungen wird für Pferde, die nicht oder nur ungenügend geimpft sind oder eine ungenaue Anamnese aufweisen, die Simultanimpfung empfohlen (59). Bei dieser Art der Impfung wird gleichzeitig, jedoch örtlich verschieden, Antitoxin und Toxoid injiziert. Das Antitoxin dient der sofortigen Neutralisation des Toxins. Das Toxoid dagegen stimuliert eine aktive Immunität, die nach dem Absinken der passiv einverleibten Antitoxine den Schutz aufrechterhält (30,31). Diese Impfung ist notwendig, weil nach dem Verschwinden der passiven Immunität, immer noch Toxin erzeugende Erreger im Körper vorhanden sein können, die dann zu einem erneuten Aufflackern der Krankheit führen (41).

Lange Zeit war die Wirksamkeit der Simultanimpfung gegen Tetanus umstritten, denn es wurde angenommen, daß das gleichzeitig verabreichte Antitoxin das Toxoid sofort bindet und das Toxoid dann keine Immunreaktion mehr auszulösen vermag (13,6,8). Neuere Untersuchungen haben aber ergeben, daß es bei der simultanen Verabreichung von Antitoxin und Toxoid, im Vergleich zur alleinigen Toxoidimpfung, nur zu einer zeitlichen Verzögerung im Erscheinen aktiv gebildeter Antitoxine kommt (25,30,31,42,47). Nach der Wiederholungsimpfung 21 bis 28 Tage nach der Simultanimpfung wird ein Boostereffekt stimuliert, der dann ebenso gut und schnell eintritt wie

bei einer aktiven Grundimmunisierung ohne zusätzliche passive Antitoxingabe (9,31,42,58). Diese Ergebnisse gelten aber nur für Adsorbatimpfstoffe; mit reinem Tetanus-Toxoid ist dagegen die Simultanimpfung nicht möglich (16,31,33). Ebenso wurde ein suppressiver Effekt auf die Entwicklung der aktiven Immunität bei der Verwendung von mehr als 10 000 I.E. heterologem Antitoxin (12) oder bei mehr als 400 I.E. homologem Antitoxin beobachtet (33).

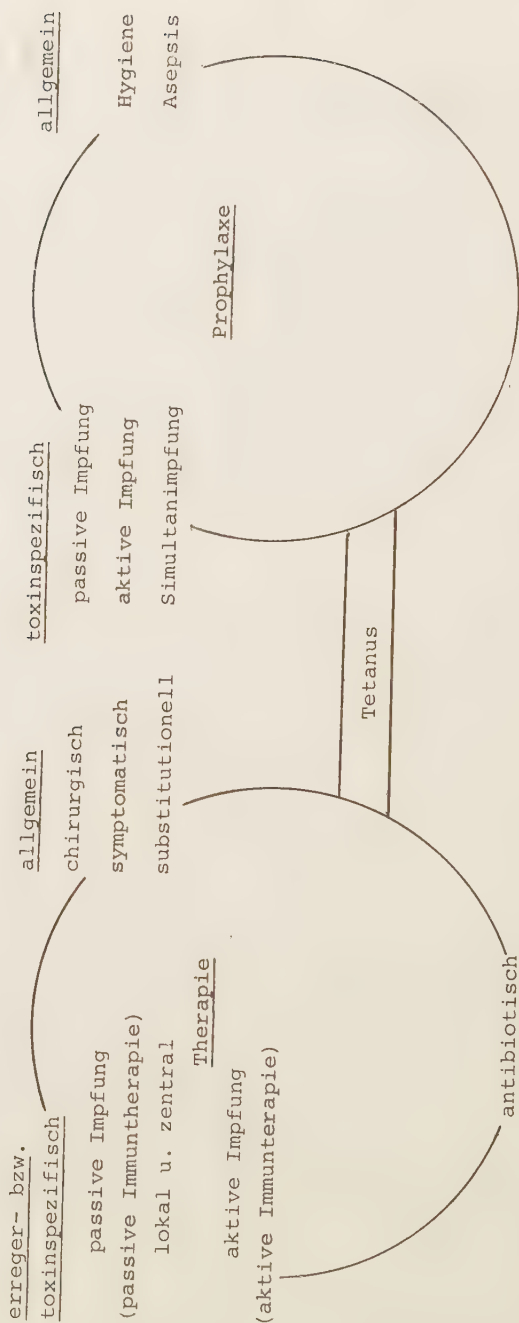
2.3. Impfreaktionen nach aktiver und passiver Immunisierung

Gelegentlich werden nach aktiver Schutzimpfung gegen Tetanus lokale entzündliche Prozesse beschrieben, die meist urtiarieller Natur sind. Seltener werden allgemeine Reaktionen wie Unruhe, Inappetenz, Fieber und örtliche Drüsenschwellung beobachtet. Die Adsorbatimpfstoffe erzeugen manchmal kleine Granulome, die oft erst im Laufe mehrerer Monate resorbiert werden. Auch treten gelegentlich sterile Abszesse auf, die auf zu oberflächliche Injektion des Impfstoffes zurückgeführt werden (34,41).

Impfkomplikationen allergischer Natur werden nach Impfungen mit gereinigtem Tetanus-Toxoid nur selten beschrieben. Dies ist zum ersten auf dem Umstand zurückzuführen, daß es keine latente Tetanusinfektion gibt und zum zweiten darauf, daß das gereinigte Tetanus-Toxoid ein sehr schwaches Allergen darstellt (41).

Über Impfreaktionen bei der passiven Immunisierung des Pferdes ist praktisch nichts bekannt, da beim Pferd keine Veranlassung besteht, heterologe Seren zu verwenden. Allergische Reaktionen, wie anaphylaktischer Schock und Serumkrankheit stellen Komplikationen dar, die beim Menschen nach wiederholter Injektion von heterologen Seren beschrieben worden sind (41).

Abb. 1: Möglichkeiten einer Tetanusmedikation beim Pferd.



3. Eigene Untersuchungen

3.1. Material und Methoden

3.1.1. Versuchstiere

Für die Untersuchungen standen insgesamt 76 Pferde zur Verfügung. Dabei handelte es sich um männliche und weibliche Tiere.

Vor Versuchsbeginn wurden von jedem Tier Alter und Zahl der vorausgegangenen Tetanus-Impfungen aufgenommen. Das Alter der Versuchstiere lag zwischen 1 und 15 Jahre.

3.1.2. Impfstoff

Zur oralen und nasalen Immunsierung sowie zur Wundimmunsierung verwendeten wir ein mit Formalin inaktiviertes Tetanus-Toxin der Firma Behring-Werke AG, Marburg. Das Toxoid war hochgereinigt und enthielt keine Adjuvantien. Die Dichte des Toxoid-Konzentrats betrug 2000 Lf pro ml.

3.1.3. Immunisierung

Die Immunisierung erfolgte oral, nasal und intramusulär sowie über Wunden.

Die orale Impfung wurde wie folgt vorgenommen:

a) das Toxoid wurde auf 1 oder 2 Zuckerwürfel geträufelt und

den Versuchstieren zum Fressen gegeben;

- b) das Toxoid wurde mit einem Spray in der Maulhöhle versprüht;
- c) der "Toxoid-Zuckerwürfel" wurde in eine Gelatine kapsel gegeben und den Pferden mit einem Pilleneingeber oral verabreicht.

Bei der nasalen Impfung versprühten wir das Toxoid mit einem Sprühkatheter in der Nase.

Bei der Wundimmunisierung wurde das Toxoid auf die Wunde geträufelt.

Die parenterale Impfung wurde wie üblich intramuskulär vorgenommen.

3.1.4. Applikationsmodus und Impfdosis

Oral impften wir je nach Versuchsgruppe einmal oder dreimal an drei aufeinanderfolgenden Tagen; über die Wunde, nasal und intramuskulär dagegen alle Versuchsgruppen nur einmal. Die Einzeldosis schwankte bei der oralen Impfung zwischen 1000 und 2000 Lf, bei der nasalen Impfung und der Wundimpfung betrug sie 1000 Lf und bei der intramuskulären Impfung 150 Lf.

3.1.5. Blutentnahme

Die Blutentnahme wurde vor und 14 Tage nach der Impfung durchgeführt. Bei einem Teil der Versuchspferde entnahmen wir auch 28 Tage nach der Impfung Blut.

3.1.6. Gewinnung der Sera

Das Blut wurde nach der Entnahme über Nacht im Kühlschrank aufbewahrt und am nächsten Tag bei ca. 3000 UpM zentrifugiert. Das gewonnene Serum wurde bis zur Durchführung der Antitoxinbestimmung bei -20°C eingefroren.

3.1.7. Indirekte Hämmagglutination

3.1.7.1. Immunserum

Kaninchen wurden im Abstand von 3 Tagen insgesamt 6-mal immunisiert. Die Toxoiddosis wurde von 2 Lf bei der ersten Impfung auf 2000 Lf bei der 6. Impfung gesteigert. 14 Tage nach der letzten Impfung wurden die Kaninchen durch Herzpunktion unter Narkose (Ketanest und Rompun) entblutet. Das Serum wurde bis zur Verwendung bei -20° eingefroren.

3.1.7.2. Behandlung der Sera

Die Pferdesera wurden bei 56°C im Wasserbad 30 Minuten inaktiviert und anschließend mit Hammelerythrozyten absorbiert. Dazu wurden 0,1 ml Hammelerythrozyten zu je 1 ml Serum gegeben und nach etwa 1-stündiger Bebrütung des Gemisches wieder abzentrifugiert.

3.1.7.3. Antigen

Als Antigen verwendeten wir das gleiche Tetanus-Toxoid-Konzentrat wie zur Impfung.

3.1.7.4. Stabilisierung der Erythrozyten

Die Reaktion wurde mit Hammelblutkörperchen (HE) durchgeführt. Zur Stabilisierung der HE wurde eine 10%ige Suspension der HE in 0,15 m PBS hergestellt und 0,25 Volumen einer 1%igen Glutaraldehydlösung (in PBS) dazugegeben. Das Gemisch ließen wir eine Stunde bei Zimmertemperatur unter gelegentlichem Schütteln stehen und seichten danach das Blut durch doppelte Gaze. Anschließend wurden die HE bei 3000 UpM abzentrifugiert, fünfmal in PBS gewaschen, und bis zur weiteren Verwendung in einer 10 bis 50%igen Lösung aufbewahrt.

3.1.7.5. Sensibilisierung der HE

Zur Sensibilisierung der HE mischten wir eine 2,5%ige HE-Suspension (stabilisiert) mit gleichem Volumen Tetanus-Toxoid in einer Konzentration von 1000 Lf pro ml und bebrüteten das Gemisch 2 Stunden bei 37°C. Anschließend wurden die Erythrozyten zweimal in 0,14 M NaCl gewaschen und auf eine Konzentration von 0,5% eingestellt.

3.1.7.6. Durchführung des Testes

Von den Pferdeseren wurde in Agglutinationsröhrchen eine Verdünnungsreihe in 2-er Potenzen mit 0,3 ml Serum in physiologischer Kochsalzlösung angelegt. Zu jeder Verdünnungsstufe wurden 0,3 ml sensibilisierte HE pipettiert. Als Kontrollen wurden ein Kaninchenimmenserum (positive Serumkontrolle) und ein Pferdenormalserum (negative Serumkontrolle) parallel zu den übrigen Seren getestet. Ferner wurden alle Seren mit nicht sensibilisierten HE (Serumkontrolle) und die verwendete Kochsalzlösung mit sensibilisierten HE (NaCl-Kontrolle) auf unspezifische Reaktionen überprüft.

Nach 16-stündiger Bebrütung der Gemische bei Zimmertemperatur erfolgte die Ablesung der Reaktion.

3.1.8. L_{+} -Methode

Die Seren der Pferde untersuchten wir auch auf den Gehalt an neutralisierenden Antitoxinen. Die Bestimmung des Antitoxintiters in Internationalen Einheiten (I.E.) wurde nach der L_{+} -Methode durchgeführt. Die Auswertung erfolgte durch den Vergleich der Mortalität bei den mit dem zu prüfenden Antitoxin injizierten Tiere mit der Mortalität bei den mit dem Standard-Antitoxin injizierten Kontrolltiere.

Als Standard verwendeten wir ein Tetanus-Antitoxinserum mit einem Titer von 10 I.E. pro ml, das uns von der Firma Behring-Werke AG, Marburg/Lahn zur Verfügung gestellt wurde. Pro Serumverdünnung wurde eine Maus angesetzt.

3.2. Ergebnisse

Im Mittelpunkt unserer Untersuchungen stand zunächst die orale Impfung, die von der Applikation her mit Abstand die einfachste und schnellste Impfmethode darstellt. Bei der Auswahl der oralen Applikationsmethoden gingen wir von den Ergebnissen an der Maus aus, die gezeigt hatten, daß das Toxoid im Magen sofort zerstört wird (1,3). Wir versuchten daher das Toxoid entweder mit einem Spray oder über Zuckerkügelchen zu applizieren um eine Persorption des Toxoids an den Maul- und Rachenschleimhäuten zu erreichen oder aber in einer Gelatine kapsel einzugeben, die das Toxoid vor dem Abbau im Magen schützen sollte, um eine Persorption im Dünndarm zu erreichen.

Die für die Versuche ausgewählten Pferde teilten wir in 2 Gruppen ein, nämlich in serologisch negative und serologisch positive Pferde, wobei wir bei den serologisch negativen Pferden vom Vorbericht her nicht immer ausschließen konnten, ob sie nicht schon vor längerer Zeit gegen Tetanus immunisiert worden waren und deshalb bereits keine nachweisbaren Antitoxine mehr im Serum hatten.

In der ersten Versuchsreihe tropften wir 1 000 Lf Tetanus-Toxoid auf 2 Stück Würfelzucker, die wir den Pferden zu fressen gaben. Die Impfdosis entsprach in etwa der siebenfachen üblichen intramuskulären Dosis. Die Ergebnisse der

serologischen Untersuchungen mit der indirekten Hämagglutination und der L_+ -Methode vor, 14 und 28 Tage nach der oralen Impfung sind in Tab. 1 zusammengefaßt.

Bei bereits vor der Impfung serologisch positiven Tieren konnten wir nach der oralen Boosterimpfung einen schwachen Antitoxintiteranstieg mit beiden Nachweismethoden feststellen. Der mittlere Agglutinationstiter stieg von 1:320 vor der Impfung auf 1:480 14 Tage nach der Impfung und der mittlere Neutralisationstiter von 0,8 I.E. auf 1,2 I.E.. 4 Wochen nach der Impfung war kein weiterer Anstieg mehr festzustellen. Die orale Impfung bei serologisch negativen Tieren stimulierte dagegen keine in der indirekten Hämagglutination oder L_+ -Methode meßbare Antitoxinbildung.

Da die Pferde die "Toxoid-Zuckerwürfel" sofort zerkauten und abschluckten, kam vielleicht nur relativ wenig Toxoid in Kontakt mit den Maul- und Rachenschleimhäuten, sodaß nur ein kleiner Teil des Toxoids persorbiert werden konnte. Wir versuchten darum, durch Versprühung des Toxoids in der Maulhöhle mit einem Spray, den Kontakt mit den Schleimhäuten zu verbessern. Versprüht wurden pro Pferd einmal ca. 1000 Lf Tetanus-Toxoid.

Wie Tabelle 2 zeigt, erreichten wir mit dieser Methode eine Verbesserung der Immunisierung. Mit der Boosterimpfung konnten wir die Antitoxintiter fast verdoppeln. Der Agglutinationstiter stieg von 1:1600 auf 1:2800 nach der Impfung

und der Neutralisationstiter von 4 I.E. auf 7 I.E. Als Primärimpfung versagte aber auch diese Applikationsmethode. Mit beiden Nachweisverfahren konnten wir sowohl vor als auch nach der Impfung im Serum keine Antitoxine gegen Tetanus nachweisen.

Bei der oralen Applikation mit einem Zuckerwürfel oder Spray kann das Toxoid nur über die Maul- und Nasenschleimhäute persorbiert werden, denn nach dem Abschlucken wird es im Magen zerstört. Die andere Möglichkeit ist, das Toxoid mit einer Gelatine kapsel vor dem Magensaft zu schützen, sodaß es erst im Dünndarm freigesetzt wird und dann persorbiert werden kann. Zu diesem Zweck verbrachten wir einen Zuckerwürfel, der mit 2000 Lf Toxoid getränkt war in eine Gelatine kapsel. Die Kapsel wurde mit einem Pillenverabreichungsgerät den Pferden eingegeben. Diese Methode führte aber im Gegensatz zu den bisherigen oralen Impfungen zu keiner Anregung der Antitoxinbildung. Die Titer von 1:1280 bzw. 3,2 I.E. stiegen während des gesamten Untersuchungszeitraumes nicht an (Tab. 3).

Die Wirksamkeit von Impfungen kann man verbessern, indem man sie mehrmals wiederholt. Bei der oralen Impfung mit anderen Antigenen haben sich Wiederholungsimpfungen in sehr kurzen Zeitabständen bewährt (Raettig). Wir impften deswegen eine Gruppe von Pferden einmal täglich an 3 aufeinanderfolgenden Tagen mit der extremen Dosis von jeweils 2000 Lf Toxoid,

das ergibt pro Pferd eine Gesamtdosis von 6000 Lf. Der Impfstoff wurde über Zuckerwürfel verabreicht. Einen Überblick über das Immunisierungsergebnis gibt Tabelle 4.

Die dreimalige Boosterimpfung führte tatsächlich zu einer Verbesserung des Immunisierungsergebnisses im Vergleich zur einmaligen Impfung. Die Antitoxintiter nach dreimaliger Impfung stiegen um das doppelte an und zwar von 1:640 auf 1:1280 (indirekte Hämagglutination) bzw. von 1,6 I.E. auf 3,2 I.E. (L_+ -Methode). Dieses Ergebnis entspricht dem nach einmaliger "Sprayimpfung". Vergleichsweise stiegen nach einmaliger Boosterimpfung über Zuckerwürfel die Titer nur von 1:320 auf 1:480 bzw. 0,8 I.E. auf 1,2 I.E. an. Als Primärimpfung versagte aber auch die dreimalige orale Applikation. Die Seren blieben vor und nach der Impfung negativ.

Eine weitere Steigerung der Impfdosis und der Anzahl der oralen Impfungen, um das Impfergebnis noch zu verbessern, erschien uns nicht mehr sinnvoll, da damit ein Praxiseinsatz der oralen Impfung allein aus herstellungstechnischen und wirtschaftlichen Gründen scheitern würde. Wenn wir das Ergebnis beim Pferd mit dem bei der Maus vergleichen, so darf man nicht übersehen, daß bei der Maus erst eine orale Impfung mit der 300-fachen parenteralen Dosis auch eine der parenteralen Impfung annähernd vergleichbare Immunantwort ergab. In unseren Versuchen beim Pferd erreichten wir mit

der höchsten Dosis von 6000 Lf erst die 40-fache Dosis der üblichen intramuskulären Impfung, das heißt um die Antitoxinbildung ausreichend zu stimulieren müßten wir wahrscheinlich beim Pferd die Dosis nochmals fast um das 10-fache auf 60 000 Lf steigern. Damit würden wir aber in einem Dosisbereich liegen der utopisch ist. Aus dieser Überlegung heraus führten wir keine weiteren Versuche mit der oralen Impfung durch. Vielmehr prüften wir als nächste lokale Impfmethode die nach den bisherigen Tierversuchen sehr viel effektiver einzuschätzende nasale Impfung (1,3).

Zur nasalen Impfung verwendeten wir einen in der Pferdepraxis üblichen Sprühkatheter, mit dem wir das flüssige Toxoid in der Nasenhöhle versprühten. Die einmalige Impfdosis lag bei 1000 Lf, das Impfvolumen betrug 20 ml. Die Ergebnisse im einzelnen sind in Tabelle 5 zusammengestellt.

Nach nasaler Impfung kam es erstmals zu deutlichen Antitoxintiteranstiegen. Bei den bereits vorimmunisierten Pferden stiegen die Agglutinationstiter von 1:370 auf 1:5440 2 Wochen nach der Impfung. Auch bei den vor der Impfung serologisch negativ reagierenden Pferden konnten wir einen deutlichen Antitoxintiteranstieg feststellen. Zwei Wochen post vaccinationem maßen wir im Serum dieser Tiere einen mittleren Agglutinationstiter von 1:510. Entsprechend fiel das Ergebnis mit der L_+ -Methode aus. Die Boosterimpfung brachte einen Anstieg von 1 I.E. vor der

Impfung auf 13,6 I.E. 2 Wochen nach der Impfung und die Primärimpfung einen Anstieg von negativ auf 1,3 I.E.. Vier Wochen nach der Impfung waren sowohl bei der Booster- als auch der Primärimpfung keine weiteren Antitoxintiteranstiege mehr festzustellen.

Als dritte lokale Impfmethode prüften wir die Immunisierung über die Wunde, die in Versuchen an der Maus der nasalen Impfung zumindest ebenbürtig war. Beim Pferd untersuchten wir die Impfung über frische Wunden (Operationswunden) und über Wunden (Verletzungen), die bereits 6 bis 8 Stunden alt waren. Das Toxoid wurde in beiden Gruppen vor der Hautnaht auf das zerstörte Gewebe geträufelt. Die auf die Wunde verbrachte Toxoidmenge betrug immer 1000 Lf.

Das Immunisierungsergebnis war in beiden Gruppen verschieden. Nach der Wundimpfung bei den 6 bis 8 Stunden alten Wunden konnten wir keine Immunreaktion feststellen. Die Antitoxintiter bleiben auf dem Niveau vor der Impfung. Das Ergebnis der Wundimpfung bei frischen Wunden war dagegen sehr gut. Die genauen Antitoxintiter sind in Tabelle 6 zusammengestellt. Die Boosterimpfung über die Wunde stimulierte einen Agglutinationstiteranstieg von 1:260 auf 1:2800 bzw. einen Neutralisationstiteranstieg von 0,7 I.E. auf 7,1 I.E.. Bei den erstmals geimpften Pferden stellten wir 2 Wochen post vaccinationem Antitoxintiter von 1:2100 bzw. 5,2 I.E. fest. Mit der Primärimpfung erreichten wir damit fast die

gleich hohen Antitoxintiter, als mit der Boosterimpfung. Dies ist überraschend und widerspricht den bisherigen Erfahrungen mit der Schutzimpfung gegen Tetanus. Möglicherweise verbargen sich aber unter den Erstimpflingen Pferde, die zwar vor längerer Zeit gegen Tetanus immunisiert worden waren, aber keine nachweisbaren Antitoxine mehr im Serum hatten.

Die Qualität unserer Ergebnisse mit den lokalen Impfungen kann man nur echt beurteilen, wenn man sie mit dem Ergebnis der bewährten intramuskulären Tetanus-Schutzimpfung vergleicht. Deshalb impften wir eine Versuchsgruppe mit einem handelsüblichen Tetanus-Impfstoff und prüften anschließend die Antitoxintiterbewegungen mit unserem Nachweissystem. Die intramuskuläre Impfdosis betrug 150 Lf Toxoid.

Wie die in Tabelle 7 zusammengestellten mittleren Antitoxintiter zeigen, lagen die Ergebnisse nach intramuskulärer Impfung etwa im Bereich unserer Ergebnisse mit der nasalen Impfung und der Wundimpfung. Bei der Boosterimpfung stiegen die Antitoxintiter von 1:440 bzw. 1,1 I.E. vor der Impfung auf 1:3280 bzw. 8,2 I.E. 2 Wochen nach der Impfung. Pferde, bei denen vor der Impfung keine Antitoxine nachgewiesen werden konnten, hatten 2 Wochen nach der Impfung einen mittleren Antitoxintiter von 1:1020 bzw. 2,5 I.E.. Dieses Ergebnis liegt zwischen dem nach der Wundimpfung (5,2 I.E.) und dem nach nasaler Impfung (1,3 I.E.).

Einen zusammenfassenden Überblick über die Ergebnisse der oralen, nasalen und intramuskulären Impfung sowie der Wundimpfung gegen Tetanus gibt Abbildung 2. Wir verzichteten in dieser Zusammenstellung auf die Agglutinationstiter, weil für die Beurteilung der Tetanus-Immunität allgemein nur die Neutralisationstiter herangezogen werden.

Wie unsere Ergebnisse aber zeigen besteht eine gute Korrelation zwischen Agglutinationstiter und Neutralisationstiter. In unseren Versuchen entsprach ein Agglutinationstiter von 1:400 ungefähr einer 1 I.E..

Bei den vor der Impfung serologisch negativen Tieren konnten wir nur nach Wundimpfung, intranasaler und intramuskulärer Impfung eine Antitoxinreaktion nachweisen, wobei die Antitoxintiter der Wundimpfung deutlich über den einheitlichen Werten der nasalen und intramuskulären Impfung lagen. Bei den oral geimpften Pferden waren in allen Fällen auch nach der Impfung keine Antitoxine nachweisbar.

Nach der Boosterimpfung konnten wir, mit Ausnahme der oralen Impfung über eine Gelatine kapsel, in allen Fällen eine Immunreaktion nachweisen. Die Stärke der Reaktion war aber sehr unterschiedlich. Mit der oralen Applikation ließ sich selbst nach mehreren Impfungen und extrem hoher Dosierung, nur eine Verdoppelung der Antitoxintiter erreichen. Sehr gute Ergebnisse lieferte die intranasale Impfung mit einem Anstieg um das dreizehnfache, die Wundimpfung mit einem

Anstieg um das Zehnfache und die intramuskuläre Impfung mit einem Anstieg um das achtfache. Man darf aber nicht übersehen, daß wir lokal mindestens sechs-bis siebenmal soviel Tetanus-Toxoid verimpften wie parenteral.

Art der Impfung	Antitoxinnach- weismethode	n	Antitoxintiter 1)		
			Vor der Impfung	14 Tage p. vacc.	18 Tage p. vacc.
Booster- impfung	indirekte Hämagglutination	8	1 : 320	1 : 480	1 : 480
	L ₊ -Methode		0,8 I.E.	1,2 I.E.	1,2 I.E.
Primär- impfung	indirekte Hämagglutination	3	negativ	negativ	negativ
	L ₊ -Methode		negativ	negativ	negativ

1) geometrisches Mittel

Tab. 1: Mittlerer Antitoxintiter bei Pferden, die einmal oral mit Tetanus-Toxoid (1000 I.f) immunisiert wurden
(2 Stück Zucker)

Art der Impfung	Antitoxin-nachweismethode	n	Antitoxintiter 1)		
			vor der Impfung	14 Tage p. vacc.	28 Tage p. vacc.
Booster-impfung	indirekte Hämagglutination	7	1 : 1600	1 : 2800	1 : 2800
	L ₊ -Methode		4 I.E.	7 I.E.	7 I.E.
Primär-impfung	indirekte Hämagglutination	3	negativ	negativ	negativ
	L ₊ -Methode		negativ	negativ	negativ

1) geometrisches Mittel

Tab. 2: Mittlerer Antitoxintiter bei Pferden, die einmal oral mit Tetanus-Toxoid (1000 Lf) mittels Spray immunisiert wurden.

Art der Impfung	Antitoxinnachweismethode	n	Antitoxintiter ¹⁾		
			vor der Impfung	14 Tage p. vacc.	28 Tage p. vacc.
Booster-impfung	indirekte Hämagglutination	5	1 : 1280	1 : 1280	n. d. ²⁾
	L ₊ -Methode		3,2 I.E.	3,2 I.E.	n. d.
Primär-impfung	indirekte Hämagglutination		n. d.	n. d.	n. d.
	L ₊ -Methode		n. d.	n. d.	n. d.

1) geometrisches Mittel

2) nicht durchgeführt

Tab. 3: Mittlerer Antitoxintiter bei Pferden, die einmal oral über eine Gelatinekapself mit Tetanus-Toxoid (2000 Lf) immunisiert wurden.

Art der Impfung	Antitoxin- nachweismethode	n	Antitoxintiter ¹⁾		
			vor der Impfung	14 Tage p. vacc.	28 Tage p. vacc.
Booster- impfung	indirekte Hämagglutination	5	1 : 640	1 : 1280	1 : 1280
	L ₊ -Methode		1,6 I.E.	3,2 I.E.	3,2 I.E.
Primär- impfung	indirekte Hämagglutination	3	negativ	negativ	negativ
	L ₊ -Methode		negativ	negativ	negativ

1) geometrisches Mittel

Tab. 4: Mittlerer Antitoxintiter bei Pferden, die dreimal oral mit Tetanus-Toxoid (3x2000 Lf) über Zuckerwürfel immunisiert wurden.

Art der Impfung	Antitoxin- nachweismethode	n	Antitoxintiter ¹⁾		
			vor der Impfung	14 Tage p. vacc.	28 Tage p. vacc.
Booster- impfung	indirekte Hämagglutination	9	1 : 370	1 : 5440	1 : 5440
	L ₊ -Methode		1 I.E.	13,6 I.E.	13,6 I.E.
Primär- impfung	indirekte Hämagglutination	5	negativ	1 : 510	1 : 510
	L ₊ -Methode		negativ	1,3 I.E.	1,3 I.E.

1) geometrisches Mittel

Tab. 5: Mittlerer Antitoxintiter bei Pferden, die einmal nasal mit Tetanus-Toxoid (1000 Lf) immunisiert wurden.

Art der Impfung	Antitoxin- nachweismethode	n	Antitoxintiter 1)		
			vor der Impfung	14 Tage p. vacc.	28 Tage p. vacc.
Booster- impfung	indirekte Hämagglutination	10	1 : 260	1 : 2800	n. d.
	L ₊ -Methode		0,7 I.E.	7,1 I.E.	n. d.
Primär- impfung	indirekte Hämagglutination	5	negativ	1 : 2100	n. d.
	L ₊ -Methode		negativ	5,2 I.E.	n. d.

1) geometrisches Mittel

Tab. 6: Mittlerer Antitoxintiter bei Pferden, die einmal mit Tetanus-Toxoid (1000 Lf) über frische Wunden (Operationswunden) immunisiert wurden.

Art der Impfung	Antitoxin-nachweismethode	n	Antitoxintiter 1)		
			vor der Impfung	14 Tage p. vacc.	28 Tage p. vacc.
Booster-impfung	indirekte Hämagglutination	5	1 : 440	1 : 3280	1 : 3280
	L ₊ -Methode		1,1 I.E.	8,2 I.E.	8,2 I.E.
Primär-impfung	indirekte Hämagglutination	3	negativ	1 : 1020	1 : 1020
	L ₊ -Methode		negativ	2,5 I.E.	2,5 I.E.

1) geometrisches Mittel

Tab. 7: Mittlerer Antitoxintiter bei Pferden, die einmal intramuskulär mit Tetanus-Toxoid (150 Lf) immunisiert wurden.

Abb. 2: Überblick über das Immunisierungsergebnis bei Pferden nach oraler, nasaler und intramuskulärer Impfung sowie nach Wundimpfung gegen Tetanus.

Applikationsart		Zahl der Impfungen	Impfdosis (in Lf)	Mittlerer Neutralisationstiter (in J.E.)			
				Primärimpfung		Boosterimpfung	
				vor der Impfung	2 Wochen nach der Impfung	vor der Impfung	2 Wochen nach der Impfung
oral	Zuckerwürfel	1	1000	negativ	negativ	0,8	1,2
		3	6000		negativ	1,6	3,2
	Spray	1	1000		negativ	4	7
	Gelatinekapsel	1	2000		negativ	3,2	3,2
intranasal		1	1000		1,3	1	13,6
Wundimpfung		1	1000		5,2	0,7	7,1
intramuskulär		1	150		2,5	1,1	8,2

Neutralisationstiter (L₊-Methode)



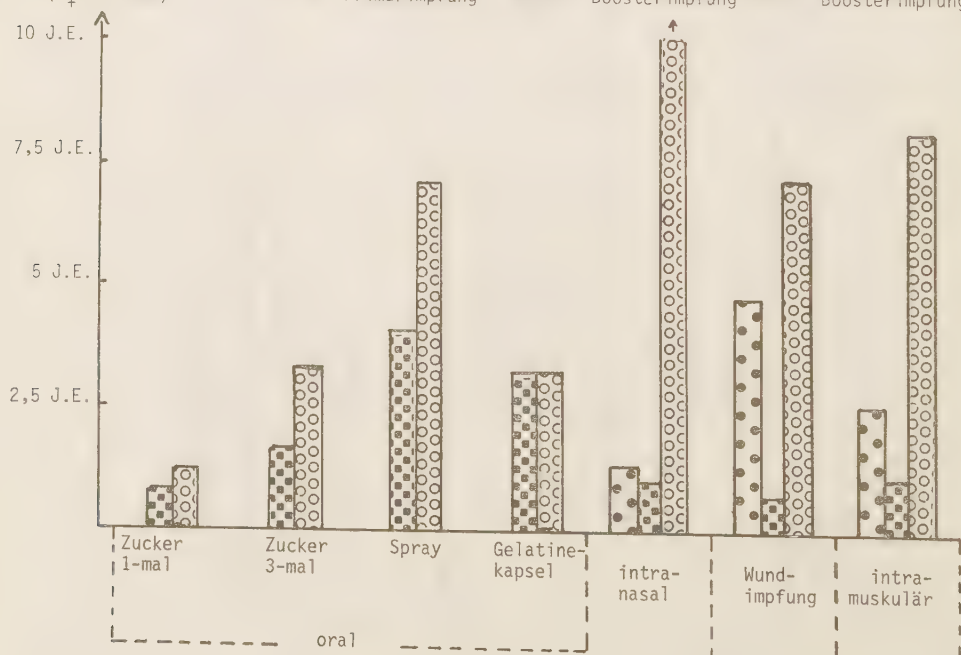
: Titer nach Primärimpfung



: Titer vor Boosterimpfung



: Titer nach Boosterimpfung



4. Besprechung der Ergebnisse

Eine lokale Immunisierung gegen Tetanus wurde bisher beim Pferd nur einmal versucht. Schützler und Dockhorn konnten beim Pferd nach Inhalationsimpfung mit Tetanus-Toxoid signifikante Antitoxintiteranstiege nachweisen. Die Antikörperreaktion nach lokaler Impfung war, selbst nach hoher Dosierung und langer Anwendungszeit, wesentlich schwächer als die nach der parallel durchgeführten parenteralen Impfung. Grundsätzlich ist aber, ihrer Meinung nach, eine lokale Impfung gegen Tetanus beim Pferd möglich.

Wir prüften beim Pferd die Möglichkeit einer oralen und nasalen Impfung, sowie einer Wundimmunisierung gegen Tetanus. Mit diesen Untersuchungen wollten wir feststellen welche lokale Applikationsmethode zur Schutzimpfung gegen Tetanus beim Pferd geeignet ist und welche der möglichen, lokalen Impfmethoden unter Praxisbedingungen am besten einsetzbar ist.

Von den drei lokalen Impfmethoden war die orale Impfung am einfachsten durchführbar, gleichgültig ob wir das Toxoid über Zuckerwürfel, mit einem Spray oder mit einer Gelatine kapsel oral verabreichten. Sie brachte aber mit Abstand das schwächste Immunisierungsergebnis. Nach oraler Primärimpfung war in allen Fällen keine Immunreaktion nach-

zuweisen. Dies zeigt, daß über die Maulschleimhäute zu wenig Toxoid persorbiert wird, um eine nachweisbare Primärreaktion zu stimulieren. Der Großteil des Tetanus-Toxoids wird sicher abgeschluckt und im Magen zerstört, wie bereits andere Untersuchungen beim Menschen (Greenberg und Fleming) und der Maus (Baljer et al.) gezeigt haben.

Nach oraler Boosterimpfung mit der Gelatine kapsel, durch die das Toxoid vor dem Abbau im Magen geschützt werden sollte, war ebenfalls keine Immunreaktion nachzuweisen. Vermutlich wurde die Gelatine kapsel schon im Magen aufgelöst und das Tetanus-Toxoid nach seiner Freisetzung sofort abgebaut, denn bei einer Applikation des Toxoids direkt in den Dünndarm wäre, auf Grund anderer Ergebnisse (1,3,17), eine schwache Immunität zu erwarten gewesen.

Nur die orale Boosterimpfung über Zuckerwürfel oder mit einem Spray brachte positive Ergebnisse. Aber auch hier waren der oralen Immunisierung Grenzen gesetzt. Selbst durch eine extreme Steigerung der Impfdosis konnte keine entsprechend stärkere Immunreaktion angeregt werden, wie dies zum Beispiel bei der parenteralen Impfung der Fall ist.

Für die nasale Impfung reicherten wir nicht wie Schützler und Dockhorn die Atemluft mit Toxoid an, sondern sprühten das Toxoid direkt in die Nase. Das Ergebnis mit der "direkten" nasalen Impfung war besser als das mit der Aerosol-

impfung. Schon 14 Tage nach einer Erstimpfung stellten wir einen mittleren Antitoxintiter von 1,3 I.E. fest, der deutlich über dem Mindestschutzwert von 0,1 bis 0,05 I.E. lag. Bei der nasalen Boosterimpfung stiegen die Antitoxintiter sogar um das Dreizehnfache an. Mit diesem Ergebnis übertraf sie das Resultat der intramuskulären Impfung bei einer nur um das sechsfache höheren Impfdosis. Die nasale Impfung hat darüberhinaus gegenüber der intramuskulären Impfung den Vorteil, daß sie ohne das Risiko der Lokalreaktion und absolut schmerzlos durchgeführt werden kann.

Die Wundimmunisierung erwies sich ebenfalls als praktikable lokale Immunisierungsmöglichkeit gegen Tetanus beim Pferd. Ausschlaggebend für die Wirksamkeit der Wundimpfung war der Zeitpunkt der Toxoidapplikation. Bei einer Impfung auf frische Wunden, zum Beispiel Operationswunden, war das Immunisierungsergebnis im Fall der Boosterimpfung der nasalen und intramuskulären Impfung ebenbürtig, im Fall der Primärimpfung sogar deutlich überlegen. Die postvakzinalen Antitoxintiter lagen in beiden Fällen weit über dem Mindestschutzwert. Bei Wunden, die ca. 8 Stunden alt waren, blieb dagegen eine Immunreaktion aus. Zu diesem Zeitpunkt wurde kein oder zu wenig Toxoid über die Wunde resorbiert, um eine Immunität zu stimulieren. Dieses Ergebnis stimmt mit den Befunden an der Maus überein, die gezeigt hatten, daß bei einer Impfung ab der 5. bis 6. Stunde die Wirksam-

keit der Wundimpfung nachläßt (2). Die Stärke des Wirksamkeitsverlustes hängt dabei wesentlich von der Impfdosis ab. Man sollte aber in jedem Fall, um einen sicheren Impferfolg der Wundimpfung zu garantieren, die Immunisierung innerhalb der ersten 3 Stunden nach einer Verletzung oder gewollten Wundsetzung (Operation) durchführen. Dies ist aber in der Praxis nur möglich, wenn die Wundimmunisierung ein Bestandteil der Wundschnellversorgung ist. Hier bietet sich zum Beispiel ein Tetanus-Toxoid-Spray als fester Bestandteil der Notapotheke an. Zu diesem Zweck könnte man auch das Toxoid in einem Spray mit Antibiotica oder wundabdeckenden Substanzen kombinieren.

5. Zusammenfassung

Es wurde die Wirksamkeit und Unschädlichkeit einer oralen, nasalen und über Wunden durchgeführten aktiven Immunisierung gegen Tetanus im Vergleich zur parenteralen Schutzimpfung beim Pferd untersucht. Die Wirksamkeit der Impfungen wurde durch die Bestimmung der Serumantitoxine mit der indirekten Hämagglutination und der L_+ -Methode geprüft.

Alle Impfmethoden waren unschädlich. Bei den lokalen Applikationen blieben Lokalreaktionen aus.

Eine orale Boosterimpfung führte trotz hoher Impfdosis (bis zu 6000 Lf) nur zu einem sehr geringen Antitoxinanstieg. Im günstigsten Fall wurde bei der oralen Impfung eine Verdoppelung der Antitoxintiter festgestellt. Die orale Primärimpfung verlief in allen Fällen negativ.

Nach nasaler Boosterimpfung mit 1000 Lf konnte ein Antitoxintiteranstieg um das dreizehnfache von 1 I.E. auf 13,6 I.E. erreicht werden. Die nasale Primärimpfung stimulierte einen mittleren Neutralisationstiter von 1 I.E..

Die Wirksamkeit der Wundimpfung (1000 Lf) wurde durch den Zeitabstand der Impfung zur Wundsetzung bestimmt. Kurz nach der Wundsetzung glich das Immunisierungsergebnis dem nach nasaler Impfung. Nach Boosterimpfung stiegen die Titer von

0,7 I.E. auf 7,1 I.E. und nach Primovaccination wurde ein Antitoxintiter von 5,2 I.E. erreicht. Eine Wundimpfung 8 Stunden nach der Wundsetzung blieb erfolglos.

Nach intramuskulärer Boosterimpfung stiegen die Antitoxintiter von 1,1 I.E. auf 8,2 I.E.. Bei Erstimpfungen wurden mittlere Antitoxintiter um 2,5 I.E. gemessen.

Für die Praxis kann sowohl die nasale als auch die Wundimpfung gegen Tetanus als Primär- und Boosterimpfung empfohlen werden. Eine orale Schutzimpfung gegen Tetanus ist beim Pferd nicht ausreichend wirksam.

Summary

The comparative effectiveness of oral, nasal, intramuscular immunization and immunization per wound of horses with tetanus-toxoid was investigated. The effectiveness was tested by the determination of antitoxin titers with indirect hemagglutination and L_+ -method.

All vaccination methods were harmless. After local application we observed no local reactions.

Oral booster vaccination produced only very low increases in antitoxin titer even at the highest dose of 6000 Lf toxoid. In the most favourable case with oral immunization a doubling of antitoxin titers was achieved. Primary oral vaccination failed to stimulate measurable antitoxin production.

After nasal booster vaccination with 1000 Lf of toxoid a thirteen-fold rise in antitoxin titer was detectable. Following primary vaccination an average neutralisation titer of 1 I.E. was achieved.

Efficacy of immunization per wound (1000 Lf) was dependent on time between injury and vaccination. Vaccination results with fresh wounds were similar to nasal and intramuscular immuni-

zation. After booster vaccination antitoxin titers increase from 0,7 I.E. to 7,1 I.E. and after primary vaccination antitoxin titers of 5,2 I.E. were achieved. Immunization per wound was negative 8 hours after injury.

After intramuscular booster vaccination antitoxin titer increased from 1,1 I.E. to 8,2 I.E.. After primary vaccination the antitoxin titer amounted 2,5 I.E..

These results indicate that primary and booster vaccination against tetanus by the nasal route or per wound is as safe and effective as intramuscular vaccination. The efficacy of oral immunization against tetanus in horses was not sufficient.

6. Literaturverzeichnis

1. Baljer, G., H. Starflinger, K.-H. Sorg, J. Sailer, und A. Mayr: Experimentelle Untersuchungen zur oralen Immunisierung mit Tetanus-Toxoid.
Zbl.Bakt.Hyg., I.Abt.Orig. A 232, 488 (1975)
2. Baljer, G., H. Meiler, J. Sailer und A. Mayr: Eine neue Möglichkeit der "non-parenteralen" (lokalen) Impfung: Die Immunisierung über die Wunde.
Zbl.Bakt.Hyg., I.Abt.Orig. A 236, 308 (1976)
3. Baljer, G., J. Sailer und A. Mayr: Vergleichende Untersuchungen über eine lokale Immunisierung gegen Cl.tetani und Cl.novyi.
Wehrmedizin (1977) im Druck
4. Beer, J.: Infektionskrankheiten der Haustiere, Teil II
VEB Gustav Fischer Verlag, Jena (1974)
5. Böttger, G.: Zur Behandlung des Wundstarrkrampfes.
Münch. med. Wschr. 104, 853 (1962)
6. Chang, H., S. Schneck, N. Brody, A. Deutsch und G.W. Siskind:
Studies on the mechanism of the supression of active antibody synthesis by passively administered antibody.
J. Immunol. 102, 37 (1969)
7. Chodnik, K.S., A.R.A. Watson, und J.R. Hepple: Active Immunization of Sheep and Horses against Tetanus with Aluminium-Hydroxide-Adsorbed Toxoid.
Vet.Rec. 71, 904 (1959)
8. Cooke, R.A. und F.G. Jones: The duration of passive tetanus immunity and its effect on active immunization with tetanus-toxoid.
J.Am.Med.Ass. 121, 1201 (1943)

9. Eckmann, L.: Tetanus. Prophylaxe und Therapie.
Verlag Schwabe, Basel (1960)
10. Ehmke, J. und M. Seidler: Ein Beitrag zur Behandlung des
Tetanus unter den Bedingungen der Landpraxis.
Dtsch.tierärztl.Wschr. 74, 558 (1967)
11. Falchetti, E.: Sur le sort de l'antitoxine lors des réinjec-
tions de serum antitétanique par voie sous-cutanée.
C.R.Soc.Biol. 124, 96 (1937)
12. Fessler, J.F.: Prophylaxis of tetanus in horses.
J.Am.Vet.Med.Ass. 148, 399 (1966)
13. Finger, H. und H.P.R. Seeliger: Probleme der simultanen
Verabfolgung von Tetanus-Antiserum und Tetanus-
Toxoid.
Off.Gesundh.Wes. 34, 459 (1972)
14. Forenbacher, S. und S. Mihaljevic: Combelen beim Tetanus
des Pferdes.
Vet.Med.Nachr. 215 (1967)
15. Fritsch, R.: Die Eignung des Guajakolglyzerinäthers zum
medikamentösen Ablegen von Pferd und Rind und
zur Dauerrelaxation in der Tetanustherapie.
Zbl.Vet.Med. A 12, 278 (1965)
16. Fulthorpe, A.J.: The influence of mineral carriers on
the simultaneous active and passive immunization
of guinea-pigs against tetanus.
J.Hyg.Camb. 63, 243 (1965)
17. Greenberg, L. und D.S. Fleming: Experience with oral
immunization against diphtheria und tetanus in
human subjects.
Can.J.Publ.Hlth. 41, 445 (1950)

18. Hegyessy, G., S. Bozcoky und E. Schalek jr.: A study of the immunity against tetanus toxin following the use of a combined typhoid-tetanus vaccine.
Brit.J.exp.Path. 37, 300 (1956)
19. Heyingen, W.E.: General Characteristics.
in S.Ail, S.Kadis, T.C.Montie: "Microbiol Toxins"
Vol.I Academic Press, New Yorck and London (1970)
20. Hoyt, H.: Tetanus Treatment and Prophylaxis.
Proc. 8th Ann.Am.Ass.Equine Practitioners Conv.,
Chicago 261 (1962)
21. Ikic, D.: Die Dynamik der Bildung von antitoxischen Einheiten nach erster Dosis des Ant-Tetanus-Impfstoffes.
Z.ges.Hyg. 7, 230 (1961)
22. Kaiser, G.G., R.D. King, R.E. Lempke und M.H.Ruster:
Delayed recall of active tetanus immunization.
J.Am.Med.Ass. 178, 914 (1961)
23. Lemétayer, E., L. Nicol, O. Girard, R. Corazier, M. Cheyroux und P. Reculard: Quelques considerations sur l' injection de rappel dans la vaccination antitétanique chez le cheval. Existence possible d'une phase négative.
Bull.Acad.Vet.France 28, 425 (1955)
24. Lemétayer, E., L. Nicol, O. Girard, R. Corvazier und M. Cheyroux: Prophylaxie spécifique ininterrompue du tétanos realise des la naissance.
Proc. 15th Int.Vet.Congr. 57, (1953)
25. Levine, L., J.A. McComb, R.C. Dwyer und W.C. Latham:
Active-passive immunization.
New Engl.J.Med. 274, 186 (1966)

26. Löhrrer, J. und P. Radvila: Behandlung des Starrkrampfes
beim Pferd mit hohen Serumdosen.
Schw.Arch.Tierhk. 107, 305 (1965)
27. Loke, R.E. und D. Segre: Heterogenity of Sheep Diphteria
and Tetanus Antibodies.
J.Immunol. 45, 480 (1965)
28. Lundvall, R.L.: Chlorpromazin, Hydrochloride for Tetanus
in the Horse.
J.Am.Vet.Med.Ass. 132, 254 (1958)
29. Mason, J.H. und A. W. Schaafsma: The active immunization
of the horse against tetanus.
J.South African Vet.Med.Ass. 33, 589 (1962)
30. McComb, J.A. und R.C. Dwyer: Passive-active immunization
with tetanus immunoglobulin.
New Engl.J.Med. 268, 857 (1963)
31. McComb, J.A.: The combined use of homologous tetanus
immunoglobulin and toxoid in man.
in L.Eckmann "Principles on tetanus", Verlag
Huber, Bern und Stuttgart (1967)
32. Mérieux, Ch. und J. Mérieux: Comment faciliter la pratique
de la vaccination contre le tétanos et l'identi-
fication des sujets correctement vaccinés?
Path.Biol. 1947 (1959)
33. Maloney, P.: Active-passive immunization against tetanus
in man.
L. Eckmann "Principles on Tetanus", Verlag Huber,
Bern und Stuttgart (1967)

34. Montgomery, R.F.: The route of injection in active immunization of horses against tetanus.
Vet.Rec. 52, 539 (1940)
35. Newell, K.W.: Tetanus neonatorum: Epidemiology and prevention.
in L.Eckmann "Principles on Tetanus", Verlag Huber, Bern und Stuttgart (1967)
36. Oakley, C.L.: Immunology of Bacterial Protein Toxins.
in S.J.Ail, S.Kadis, C.T.Montie "Microbiol Toxins"
Vol.I Academic Press New Yorck and London (1970)
37. Raettig, H.J.: Die orale Impfung mit inaktivierten Mikroorganismen. Zehn Jahre Forschungsarbeit im Robert-Koch-Institut.
Bundesgesundheitsblatt 11, 141 (1971)
38. Radvila, P. und J. Löhner: Passive und aktive Tetanus-immunität und ihr Verlauf.
Schw.Arch.Tierhk. 107, 123 (1965)
39. Ramon, G. und P. Descombey: L'anatoxine tétanique et la prophylaxie du tétanos chez le cheval et les animaux domestiques.
Ann.Inst.Pasteur 41, 834 (1927)
40. Regamey, R.H.: Etude expérimentale sur la resorption et L'élimination du serum antitétanique chez le lapin.
Schw. Z.allg.Path. 7, 590 (1940)
41. Regamey, R.H.: Die Tetanusschutzimpfung.
in A. Herrlich "Handbuch der Schutzimpfungen"
Springer Verlag, Berlin (1965)

42. Regamey, R.H.: Inhibition of the active tetanus immunity
by specific antitoxin.
in L. Eckmann "Principles on Tetanus", Verlag
Huber, Bern und Stuttgart (1967)
43. Rolle, M. und Mayr, A.: Mikrobiologie und Allgemeine
Seuchenlehre.
Lehrbuch für Tierärzte und Studierende der
Tiermedizin.
Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart (1966)
44. Rossdale, P.D. und J. Scarnell: Immunisation of the
new-born foal against tetanus.
Vet.Rec. 73, 184 (1961)
45. Sachs, A.: Modern views on the prevention of tetanus in
the wounded.
Proc.Roy.Soc.Med. 45 (1952)
46. Schliesser, Th.: Infektion und Infektionskrankheit
in H. Schebitz und W. Brass "Allgemeine Chirurgie
für Tierärzte und Studierende", Paul Parey Verlag,
Berlin und Hamburg 257 (1975)
47. Schneeweiß, B.: Der Einfluß von Tetanusantitoxin-Gaben
auf die antitoxische Immunität des Menschen.
Zbl.Chir. 88, 401 (1963)
48. Schofield, F.D.: Maternal immunization against tetanus
of the newborn.
in L. Eckmann "Principles on Tetanus" Verlag
Huber, Bern und Stuttgart (1967)
49. Schütz, H.G.: Tetanusbehandlung beim Pferd mit Acepromazin
als Sedativum.
Täl.Umsch. 8, 420 (1977)

50. Schützler, H. und W. Dockhorn: Untersuchungen zur aerogenen Hyperimmunisierung und aerogenen Hyperimmunserumbehandlung von Tieren. 1. Mitt. Versuche an Pferden zur aerogenen Hyperimmunisierung mit Tetanusantigen und zur aerogenen Behandlung mit Tetanus-Hyperimmunserum. Arch.exp.Vet.Med. 26, 12 (1972)
51. Sherman, R.T.: Tetanus after Antitoxin Prophylaxis. Am.J.Surg. 108, 36 (1964)
52. Stümpel, K.: Ist bei der aktiven Immunisierung gegen Tetanus ein sicherer Schutz zu erwarten, wenn die Zweit-Impfung später als 12 Wochen nach der Erst-Impfung erfolgt? Zbl.Arbeitsmed. 10, 53 (1960)
53. Ullrich, K.: Grundriß der speziellen Pathologie und Therapie der Haustiere. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart (1966)
54. Ungar, J.: Heterologous antitoxin and homologous immune globulin in Tetanus prophylaxis. in L. Eckmann "Principles on Tetanus" Verlag Huber, Bern und Stuttgart (1967)
55. Volk, V.K., R.Y. Gottshall, H.D. Anderson, H.R. Top, W.E. Bunney und F. Angela: Response to small doses of tetanus-toxoid singly or combined as DT or DTP. Publ.Hlth.Rep. 78, 264 (1963)
56. Wickens, J.T. und Boswoop: Deux nouveaux cas de tetanos traites par la chlorpromazine. Vet.Rec. 72, 162 (1960)

57. Wiedhopf, K.: Die Behandlung des Wundstarrkrampfes
mit großen intravenösen Heilserummengen.
Dtsch.Zschr.f.Chir. 284, 119 (1956)
58. Züst, B.: Die Simultanprophylaxe gegen Tetanus mit
Tetanusimpfstoff und humanem Anti-Tetanus
Globulin.
Z.Immun.Forsch. 132, 261 (1967)
59. -.--.-.-. : Infektionsschutz des Tieres.
Verlag Hildegard Hoffmann, Berlin (1972)

Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. Anton Mayr möchte ich
an dieser Stelle für die Überlassung des Themas
und für wertvolle Hinweise danken.

Ferner danke ich Herrn Dr. G. Baljer für die
hilfreiche Unterstützung.

Lebenslauf

Am 3. Juli 1942 wurde ich als Sohn des Dr.agr. Fritz Cronau und seiner Frau Anni Wilhelmine, geb. Welz, in Kirchen/Sieg geboren.

Im Herbst 1948 wurde ich in Neerdar Kr. Waldeck eingeschult, bestand 1952 die Aufnahmeprüfung für das Gymnasium in Bensheim/Bergstraße. Meine Eltern siedelten 1956 nach Wangen im Allgäu über, wo ich im Frühjahr 1962 mein Abitur ablegte.

1964 ging ich nach 2-jährigem Wehrdienst bei einer Flugabweereinheit als Leutnant der Reserve ab.

Ich immatrikulierte mich noch im selben Jahr an der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität in München. Nach bestandener Vorprüfung im Herbst 1966 beendete ich im Juli 1969 mein tierärztliches Examen und erhielt am 9. 8. 1969 meine Approbation als Tierarzt.

Von 1. 1. 1970 bis 30. 9. 1971 arbeitete ich als Assistent in der Pferdepraxis von Herrn Dr. Dieter Breuer in München.

Seit dem 1. 10. 1971 bin ich selbständig in Wattenscheid als prakt. Tierarzt tätig.

1973 wurde ich Fachtierarzt für Pferde und im Jahre 1974 Fachtierarzt für Chirurgie.

